Docket No.: 63979-034 **PATENT**

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of	:	Customer Number: 20277
Hiroaki OKA, et al.	:	Confirmation Number:
Serial No.:	:	Group Art Unit:
Filed: October 06, 2003	:	Examiner:

For: APPARATUS AND METHOD FOR MEASURING ACTIVITY SIGNALS OF BIOLOGICAL SAMPLES

CLAIM OF PRIORITY AND
TRANSMITTAL OF CERTIFIED PRIORITY DOCUMENT

Mail Stop CPD
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

In accordance with the provisions of 35 U.S.C. 119, Applicants hereby claim the priority of:

Japanese Patent Application No. 2002-137819, filed May 13, 2002

cited in the Declaration of the present application. A certified copy is submitted herewith.

Respectfully submitted,

MCDERMOTT, WILL & EMERY

Michael E. Fogarty
Registration No. 36,139

600 13th Street, N.W.
Washington, DC 20005-3096
(202) 756-8000 MEF:mcw
Facsimile: (202) 756-8087
Date: October 6, 2003

63979-034
October 6, 2003
HIROAKI et al.

McDermott, Will & Emery

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: ２００２年　５月１３日

出願番号
Application Number: 特願２００２－１３７８１９

[ST. 10/C]: [ＪＰ２００２－１３７８１９]

出願人
Applicant(s): 松下電器産業株式会社

２００３年　７月１０日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office 太田信一郎

出証番号　出証特２００３－３０５６４２１

【書類名】　特許願
【整理番号】　2033840074
【提出日】　平成14年 5月13日
【あて先】　特許庁長官殿
【国際特許分類】　B23K 11/30
【発明者】
　【住所又は居所】　大阪府門真市大字門真１００６番地　松下電器産業株式会社内
　【氏名】　岡　弘章
【発明者】
　【住所又は居所】　大阪府門真市大字門真１００６番地　松下電器産業株式会社内
　【氏名】　尾崎　亘彦
【発明者】
　【住所又は居所】　大阪府門真市大字門真１００６番地　松下電器産業株式会社内
　【氏名】　杉原　宏和
【特許出願人】
　【識別番号】　000005821
　【氏名又は名称】　松下電器産業株式会社
【代理人】
　【識別番号】　100078282
　【弁理士】
　【氏名又は名称】　山本　秀策
【選任した代理人】
　【識別番号】　100062409
　【弁理士】
　【氏名又は名称】　安村　高明

【選任した代理人】

【識別番号】　100107489

【弁理士】

【氏名又は名称】　大塩　竹志

【手数料の表示】

【予納台帳番号】　001878

【納付金額】　21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】　明細書　1

【物件名】　図面　1

【物件名】　要約書　1

【物件名】　委任状　1

【援用の表示】　平成１４年４月２３日付で提出の包括委任状

【プルーフの要否】　要

【書類名】　明細書

【発明の名称】　生体試料が発する物理化学的信号を計測するデバイスおよび装置

【特許請求の範囲】

【請求項１】　生体試料が発する物理化学的信号を計測するためのデバイスであって、

導電性材料を多孔性絶縁基板に含浸させて形成された少なくとも１つの測定電極、および前記測定電極に接続するパターニングされた導電線を備え、生体試料が発する物理化学的信号を導出し得る、デバイス。

【請求項２】　前記多孔性絶縁基板を支持する支持基板、

前記多孔性絶縁基板の表面に配置される細胞隔離部であって、生体試料を収容するための少なくとも１つのチャンバを規定する細胞隔離部、および

前記多孔性絶縁基板を通じて前記チャンバ内の生体試料に流体連結され得る吸引部、をさらに備え、

前記測定電極が前記チャンバーの下にある多孔性絶縁基板の表面に配置され、そして前記支持基板と前記吸引部を構成する部材とが接合層を挟持して配置される、請求項１に記載のデバイス。

【請求項３】　前記多孔性絶縁基板、前記測定電極、前記導電線、前記支持基板、前記細胞隔離部、および前記吸引部を構成する部材が一体化された、請求項１に記載のデバイス。

【請求項４】　前記多孔性絶縁基板が、プラスチックフィルムである、請求項１に記載のデバイス。

【請求項５】　前記支持基板および前記細胞隔離部が、前記多孔性絶縁基板を挟持して互いに溶着によって接合される、請求項２に記載のデバイス。

【請求項６】　複数の測定電極を備える請求項１に記載のデバイスであって、前記複数の測定電極の各々およびそれに接続される導電線が、他の測定電極およびそれに接続される導電線から絶縁される、デバイス。

【請求項７】　前記複数の測定電極の各々およびそれに接続される導電線が、他の測定電極およびそれに接続される導電線から、前記多孔性絶縁基板に注入

された絶縁性樹脂によって絶縁される、請求項６に記載のデバイス。

【請求項８】　前記測定電極の各々およびそれに接続される導電線が、他の測定電極およびそれに接続される導電線から、前記測定電極の各々およびこれに接続される導電線の周縁を熱処理またはレーザ圧力で多孔性構造を破壊することによって絶縁される、請求項６に記載のデバイス。

【請求項９】　前記測定電極の各々およびそれに接続される導電線が、他の測定電極およびそれに接続される導電線から、前記多孔性絶縁基板に含浸した、前記細胞隔離部と前記多孔性フィルムとを接着する接着剤によって絶縁される、請求項６に記載のデバイス。

【請求項１０】　前記多孔性絶縁基板を支持する支持基板、

前記多孔性絶縁基板の表面に配置される細胞隔離部であって、生体試料を収容するための少なくとも１つのチャンバを規定する細胞隔離部、および

少なくとも１つの基準電極をさらに備える、請求項１に記載のデバイスであって、

前記測定電極が前記チャンバの下にある多孔性絶縁基板の表面に配置され、前記基準電極が前記チャンバの内壁に配置され、そして前記基準電極に接続する導電線が前記細胞隔離部の上面にパターニングされる、デバイス。

【請求項１１】　前記多孔性絶縁基板が、１～１００００μｍの厚さをもつ、請求項１に記載のデバイス。

【請求項１２】　前記支持基板が、１０～１００００μｍの厚さをもつ、請求項２に記載のデバイス。

【請求項１３】　前記接合層が、絶縁性材料から形成され、そして１～１０００００μｍの厚さをもつ、請求項２に記載のデバイス。

【請求項１４】　前記吸引部が、前記少なくとも１つのチャンバの各々を個別に吸引するか、または同時に吸引する、請求項２に記載のデバイス。

【請求項１５】　前記導電性材料が、金属材料、導電性プラスチック、導電性差材料からなる群から選択される、請求項１に記載のデバイス。

【請求項１６】　前記金属材料が、金、白金、銅、銀、銀および塩化銀、白金および白金黒からなる群から選択される、請求項１５に記載のデバイス。

【請求項１７】　前記基準電極が、金、白金、銅、銀、銀および塩化銀、白金および白金黒からなる群から選択される材料から形成される、請求項１５に記載のデバイス。

【請求項１８】　少なくとも１つの生体試料が発する物理化学的信号を計測する方法であって、

（Ａ）生体試料を配置した請求項１に記載のデバイスから導出される時系列信号を、複数のデータからなるデータ群として取得する工程、

（Ｂ）前記データ群から、複数の抽出データ群を取得する工程であって、前記抽出データ群の各々が、前記データ群から選択される一定の個数のデータから構成される、工程

（Ｃ）前記複数の抽出データ群の標準偏差を計算し、標準偏差群を得る工程、および

（Ｄ）前記標準偏差群を構成する標準偏差の各々を参照し、物理化学的信号を選択する工程、を包含する、方法。

【請求項１９】　前記工程（Ｄ）における参照が、前記標準偏差群を構成する各々の標準偏差の平均値を計算することである、請求項１８に記載の方法。

【請求項２０】　前記工程（Ｄ）における参照が、前記標準偏差の各々を、一定幅の標準偏差を単位とする複数の階級に分類し、前記標準偏差の各々を、前記階級と、前記階級の各々に存在する前記標準偏差の個数とを軸とする座標上にプロットすること、得られたグラフを正規分布に近似すること、および得られた前記正規分布の平均値、半値幅、および分散または標準偏差を計算することである、請求項１８に記載の方法。

【請求項２１】　前記抽出データ群を構成するデータの個数を変化させて、前記工程（Ｂ）～（Ｃ）を複数回行う工程をさらに包含する、請求項１８に記載の方法。

【請求項２２】　前記抽出データ群を構成するデータの個数および前記階級の幅を変化させて、前記工程（Ｂ）～（Ｄ）を複数回行う工程をさらに包含する、請求項２０に記載の方法であって、得られる複数の前記正規分布の平均値、半値幅、および分散または標準偏差から、前記物理化学的信号を選択する、方法。

【請求項２３】　複数の生体試料が発する物理化学的信号を計測する請求項１８に記載の方法であって、前記工程（Ａ）の後で、前記生体試料の各々について取得されたデータ群を加算する工程をさらに包含する、請求項１８に記載の方法。

【請求項２４】　複数の生体試料が発する物理化学的信号を計測する請求項１８に記載の方法であって、前記工程（Ａ）の後で、前記生体試料の各々について取得されたデータ群を減算する工程をさらに包含する、請求項１に記載の方法。

【請求項２５】　複数の生体試料が発する物理化学的信号を計測する請求項１に記載の方法であって、前記工程（Ａ）の前に、前記生体試料の各々を同時に刺激する工程をさらに包含する、請求項１８に記載の方法。

【請求項２６】　前記工程（Ｄ）における参照が、前記標準偏差の各々を一定幅の標準偏差を単位とする複数の階級に分類し、前記複数の標準偏差を、前記階級と、前記階級の各々に存在する前記標準偏差の個数とを軸とする座標上にプロットすること、得られたグラフを、指数減少、指数増加、ガウス、ローレンツ、シグマ、多重ピークおよび非線形からなる群より選択される曲線近似解析により近似すること、および得られた近似曲線の頂点の前後における傾きを得ることを包含する、請求項１８に記載の方法。

【請求項２７】　前記工程（Ｂ）における選択が時系列的に行われる、請求項１８に記載の方法。

【請求項２８】　前記工程（Ｂ）～（Ｄ）を繰り返して行う請求項１９に記載の方法であって、前記工程（Ｂ）における選択が時系列的に行われ、各繰り返しにおける前記抽出データ群の最初のデータが一定の時間間隔をおいて選択され、そして各繰り返しで得られる標準偏差群の各々の平均値を比較する工程をさらに包含する、方法。

【請求項２９】　前記工程（Ｂ）～（Ｄ）を繰り返して行う請求項２０に記載の方法であって、前記工程（Ｂ）における選択が時系列的に行われ、各繰り返しにおける前記抽出データ群の最初のデータが一定の時間間隔おいて選択され、そして各繰り返しで得られる標準偏差群の各々の正規分布の平均値を比較する工

程をさらに包含する、方法。

【請求項３０】　前記（Ｂ）～（Ｄ）を繰り返して行う請求項２０に記載の方法であって、前記工程（Ｂ）における選択が時系列的に行われ、各繰り返しにおける前記抽出データ群の最初のデータが一定の時間間隔おいて選択され、そして各繰り返しで得られる標準偏差群の各々の正規分布の半値幅、分散または標準偏差を比較する工程をさらに包含する、方法。

【請求項３１】　前記工程（Ｄ）における参照が、前記標準偏差群から複数の抽出標準偏差群を得ることを包含し、ここで前記抽出標準偏差群の各々が前記標準偏差群から時系列的に選択される一定の個数の標準偏差から構成される請求項１８に記載の方法であって、

前記一定の個数の標準偏差の平均値および平均値の時系列的な増加率を計算する工程、

得られる抽出標準偏差群の各々の平均値を、あらかじめ設定された設定値と比較する工程、

前記設定値と一致するか、またはそれより大きい平均値を与える標準偏差群に対応する時系列信号の発生時刻（ａ）を同定する工程、

前記（ａ）の後の抽出標準偏差群の平均値の時系列的な増加率を、あらかじめ設定された設定値と一致するか、またはそれより小さい増加率を与える標準偏差群に対応する時系列信号の発生時刻（ｂ）を同定する工程、

前記発生時刻（ａ）および（ｂ）に基づいて有意信号を得る工程をさらに包含する、方法。

【請求項３２】　前記生体試料が細胞であり、そして前記物理化学的信号が、イオンチャンネル、受容体の活性化、または細胞内信号伝達系の作動にともなう有意信号である、請求項１８に記載の方法。

【請求項３３】　前記生体試料が細胞であり、そして前記物理化学的信号が、被検化学物質に対して応答する細胞が発生する有意信号である請求項１８に記載の方法であって、

前記工程（Ａ）が、前記細胞に対する作用が既知である標準化学物質の存在下、および前記被検化学物質の存在下でそれぞれ実施され、前記標準化学物質の存

在下で得られる前記平均値と、前記被検化学物質の存在下で得られる前記平均値とを比較する工程をさらに包含する、方法。

【請求項３４】　前記生体試料が細胞であり、そして前記物理化学的信号が、被検化学物質に対して応答する細胞が発生する有意信号である請求項１８に記載の方法であって、

前記工程（Ａ）が、前記細胞に対する作用が既知である標準化学物質の存在下、および前記標準化学物質と前記被検化学物質との共存下でそれぞれ実施され、前記標準化学物質の存在下で得られる前記平均値と、前記標準化学物質と前記被検化学物質との存在下で得られる前記平均値とを比較する工程をさらに包含する、方法。

【請求項３５】　被験体化学物質の生体試料に対する作用を測定する装置であって、

請求項１に記載のデバイス、

生体試料から発生した時系列信号を、複数のデータからなるデータ群として取得する手段、

前記データ群から、複数の抽出データ群を取得する手段であって、前記抽出データ群の各々が、前記データ群から選択される一定の個数のデータから構成される、手段

前記複数の抽出データ群の標準偏差を計算し、標準偏差群を得る手段、および

前記標準偏差群を構成する標準偏差の各々を参照し、物理化学的信号を選択する手段、を備える、装置。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【発明の属する技術分野】

本発明は、生体試料、特に細胞の発する物理化学的信号を計測するためのデバイスに関する。本発明はまた、このデバイスを用いた生体試料の物理化学的信号を測定する方法、およびこのデバイスを備えた生体試料の物理化学的信号を測定する装置に関する。本発明のデバイスは、薬品スクリーニング、細胞診断などに適用可能である。

【０００２】

【従来の技術】

従来、生体試料の活動に伴う生体試料の発する物理化学的信号は、電気的変化や生体試料に取り込まれた指示薬により発せられる蛍光強度をデジタル信号として測定装置に取り込んで測定されている。例えば、細胞のチャンネル活性度測定は、単一チャンネルレベルで測定する場合、パッチクランプなどの微小電極プローブと専用の制御装置を用いた電気生理測定装置によって得られるデジタル信号（チャンネル通過電気量）から、チャンネルの開閉時間、タイミング、回数などを算出し、チャンネルの活性度を測定している（細胞内記録法）。また、細胞全体については、細胞内に流入するイオンの量を蛍光測定法によってデジタル信号として測定し、それを細胞のチャンネル活性度としている。

【０００３】

パッチクランプ法は、マイクロピペットの先端部分につけた細胞膜の微小部分（パッチ）を用いて、単一のチャネルタンパク質分子を介するイオンの輸送を微小電極プローブによって電気的に記録する方法である。パッチクランプ法は、細胞生物学の技術の中で、１個のタンパク質分子の機能をリアルタイムで調べることのできる数少ない方法の１つである（例えば、細胞の分子生物学、第３版、Ｇａｒｌａｎｄ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ、Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、１９９４、日本語版、中村桂子ら監訳、１８１～１８２頁、１９９５年、教育社を参照のこと）。

【０００４】

パッチクランプ法などの微小電極プローブを用いる方法（細胞内記録法）は、微小電極プローブと専用の制御装置を組み合わせた電気生理測定装置によって測定される細胞のイオンチャンネルを通過する電気量から、細胞のイオンチャンネルの開閉時間、タイミング、その回数などの、イオンチャンネルの活性度を測定し、単一のイオンチャンネルレベルでの解析を可能にする。

【０００５】

また、特定のイオンの濃度変化に応じて光を発する発光指示薬または蛍光色素と、最新の画像処理法とを組み合わせ（例えば、細胞の蛍光画像をＣＣＤカメラ

などで撮影して、細胞内のイオンの移動をモニタする）、細胞の電気的活動を測定する方法もある。蛍光色素を用いる方法では、細胞全体のイオンチャンネル活性は、代表的には、細胞内に流入するイオンの全体量を蛍光測定法によって測定する。

【０００６】

しかし、パッチクランプ法は、マイクロピペットの作製およびその操作などに特殊な技術を必要とし、１つの試料の測定に多くの時間を要するため、大量の薬品候補化合物を高速でスクリーニングするのには適していない。また、蛍光色素などを利用する方法は、大量の薬品候補化合物を高速でスクリーニングできるが、細胞を染色する工程が必要であり、測定において、色素の影響によるバックグラウンドが高い上に、時間とともに脱色するためＳ／Ｎ比が悪いという欠点がある。

【０００７】

その他に、生体試料の電気化学的変化を観察する方法として、特許第２９４９８４５号、米国特許第５８１０７２５号、米国特許第５５６３０６７号、特開平９－８２７３１８号、ＷＯ０１／２５７６９　Ａ２、米国特許第５１８７０６９号、ＷＯ９８／５４２９４、ＷＯ９９／６６３２９、ＷＯ　９９／３１５０３などに記載される、マルチ電極を配置した基板を用いる方法がある。

【０００８】

特許第２９４９８４５号、米国特許第５８１０７２５号、米国特許第５５６３０６７号、および特開平９－８２７３１８号は、ガラス基板上にフォトリソグラフ技術を用いて微小電極を構成し、細胞の電気的変化を多点で細胞外測定できることを特徴とする一体化複合電極とそれを用いた計測システムを記載する。

【０００９】

ＷＯ０１／２５７６９　Ａ２は、絶縁基板上に貫通孔を備え、この貫通孔にイオンチャンネルを含む細胞などの生体試料を配置することによって細胞などと絶縁基板表面上にギガシールドを構成し、このギガシールドにより隔てられた２つの領域に設置された基準電極と測定電極を用いて、イオンチャネルをイオンが通過するときに発生する電流を測定できる基板を記載する。

【００１０】

米国特許第５１８７０６９号は、電極上で細胞を培養し、インピーダンス変化を測定することにより、細胞の増殖をモニターできるデバイスを記載する。

【００１１】

ＷＯ９８／５４２９４は、平板電極上に細胞を接着させ、その電気的信号を測定するデバイスを記載する。

【００１２】

ＷＯ９９／６６３２９は、多孔性の材料上にある細胞の活動状態を、抵抗またはインピーダンス変化により観察するデバイス、およびそれを用いたアッセイ法を記載する。

【００１３】

ＷＯ９９／３１５０３は、貫通孔を備えた基板を用い、この貫通孔に細胞をトラップすることによりパッチクランプを形成し、電流変化を測定する方法を記載する。

【００１４】

上記従来技術は、平板電極を用いて細胞の電気的活動を行うこと、および絶縁基板上に微小な貫通孔をあけて細胞と基板とでパッチクランプを形成し、イオンチャンネルを通過するイオンにより発生する電流をモニターすることを特徴としている。しかし、平板電極の場合、細胞膜の電位変化を検出するとは可能であるが、液中への信号の漏れがあるため感度良く測定できない。また絶縁基板上に微小な貫通孔を形成し、細胞とパッチクランプを形成する方法は、パッチクランプ形成の確立が低く、しかも細胞膜を破壊して物理的損傷を与えることから、無傷の細胞の活動状態を測定できない。さらに、パッチクランプ系の形成時は、吸引を行う圧力調節が困難で、しかも多チャンネルで実行するためには調節機構を備える必要があり、これは実用的ではない。これらの観点から、平板電極は、高速薬品スクリーニングに適しているが感度が悪い。さらに微小な貫通孔を備えた絶縁基板は、高速薬品スクリーニングには適していない。同様の観点から、パッチクランプ自動化ロボットは、サンプル処理に時間を要し、やはり高速薬品スクリーニングには適していない。

【００１５】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、上記従来技術の問題点を解決するものであって、従来の電気生理学的測定装置を改良して、上述のような問題点を取り除くことを目的とする。本発明は、従来の細胞外記録方法では検出することが不可能であった、生体試料が発する微細な物理化学的信号の変化を容易かつ高い信頼性で検出し得るデバイス、およびそれを用いる生体試料の物理化学的信号を測定する方法および装置を提供する。

【００１６】

【課題を解決するための手段】

本発明は、生体試料が発する物理化学的信号を計測するためのデバイスに関し、このデバイスは、導電性材料を多孔性絶縁基板に含浸させて形成された少なくとも１つの測定電極、および前記測定電極に接続するパターニングされた導電線を備え、生体試料が発する物理化学的信号を導出し得る。

【００１７】

前記デバイスは、前記多孔性絶縁基板を支持する支持基板、前記多孔性絶縁基板の表面に配置される細胞隔離部であって、生体試料を収容するための少なくとも１つのチャンバを規定する細胞隔離部、および前記多孔性絶縁基板を通じて前記チャンバ内の生体試料に流体連結され得る吸引部をさらに備え、前記測定電極が前記チャンバーの下にある多孔性絶縁基板の表面に配置され、そして前記支持基板と前記吸引部を構成する部材とが接合層を挟持して配置され得る。

【００１８】

好ましくは、前記多孔性絶縁基板、前記測定電極、前記導電線、前記支持基板、前記細胞隔離部、および前記吸引部を構成する部材は一体化されている。

【００１９】

前記多孔性絶縁基板は、プラスチックフィルムであり得る。

【００２０】

前記支持基板および前記細胞隔離部は、前記多孔性絶縁基板を挟持して互いに溶着によって接合され得る。

【００２１】

前記デバイスにおいて、前記複数の測定電極の各々およびそれに接続される導電線は、他の測定電極およびそれに接続される導電線から絶縁され得る。

【００２２】

前記複数の測定電極の各々およびそれに接続される導電線は、他の測定電極およびそれに接続される導電線から、前記多孔性絶縁基板に注入された絶縁性樹脂によって絶縁され得る。

【００２３】

前記測定電極の各々およびそれに接続される導電線は、他の測定電極およびそれに接続される導電線から、前記測定電極の各々およびこれに接続される導電線の周縁を熱処理またはレーザ圧力で多孔性構造を破壊することによって絶縁され得る。

【００２４】

前記測定電極の各々およびそれに接続される導電線は、他の測定電極およびそれに接続される導電線から、前記多孔性絶縁基板に含浸した、前記細胞隔離部と前記多孔性フィルムとを接着する接着剤によって絶縁され得る。

【００２５】

前記デバイスは、前記多孔性絶縁基板を支持する支持基板、前記多孔性絶縁基板の表面に配置される細胞隔離部であって、生体試料を収容するための少なくとも１つのチャンバを規定する細胞隔離部、および少なくとも１つの基準電極をさらに備え得る。ここで、前記測定電極は前記チャンバの下にある多孔性絶縁基板の表面に配置され、前記基準電極は前記チャンバの内壁に配置され、そして前記基準電極に接続する導電線は前記細胞隔離部の上面にパターニングされ得る。

【００２６】

好ましくは、前記多孔性絶縁基板は、１～１００００μｍの厚さをもつ。

【００２７】

好ましくは、前記支持基板は、１０～１００００μｍの厚さをもつ。

【００２８】

好ましくは、前記接合層は、絶縁性材料から形成され、そして１～１００００

μｍの厚さをもつ。

【００２９】

前記吸引部は、前記少なくとも１つのチャンバの各々を個別に吸引し得るか、または同時に吸引し得る。

【００３０】

前記導電性材料は、金属材料、導電性プラスチック、導電性差材料からなる群から選択され得る。

【００３１】

前記金属材料は、金、白金、銅、銀、銀および塩化銀、白金および白金黒からなる群から選択され得る。

【００３２】

前記基準電極は、金、白金、銅、銀、銀および塩化銀、白金および白金黒からなる群から選択される材料から形成され得る。

【００３３】

本発明はまた、１つの局面で、少なくとも１つの生体試料が発する物理化学的信号を計測する方法に関し、この方法は、（Ａ）生体試料を配置した前記デバイスから導出される時系列信号を、複数のデータからなるデータ群として取得する工程、（Ｂ）前記データ群から、複数の抽出データ群を取得する工程であって、前記抽出データ群の各々が、前記データ群から選択される一定の個数のデータから構成される工程、（Ｃ）前記複数の抽出データ群の標準偏差を計算し、標準偏差群を得る工程、および（Ｄ）前記標準偏差群を構成する標準偏差の各々を参照し、物理化学的信号を選択する工程、を包含し得る。

【００３４】

なお、本明細書において、用語「標準偏差」および「単位偏差」は、それぞれ交換可能に用いられる。

【００３５】

前記工程（Ｄ）における参照は、前記標準偏差群を構成する各々の標準偏差の平均値を計算することであり得る。

【００３６】

前記工程（Ｄ）における参照は、前記標準偏差の各々を、一定幅の標準偏差を単位とする複数の階級に分類し、前記標準偏差の各々を、前記階級と、前記階級の各々に存在する前記標準偏差の個数とを軸とする座標上にプロットすること、得られたグラフを正規分布に近似すること、および得られた前記正規分布の平均値、半値幅、および分散または標準偏差を計算することであり得る。

【００３７】

前記方法は、前記抽出データ群を構成するデータの個数を変化させて、前記工程（Ｂ）～（Ｃ）を複数回行う工程をさらに包含し得る。

【００３８】

前記方法は、前記抽出データ群を構成するデータの個数および前記階級の幅を変化させて、前記工程（Ｂ）～（Ｄ）を複数回行う工程をさらに包含し得、ここで得られる複数の前記正規分布の平均値、半値幅、および分散または標準偏差から、前記物理化学的信号を選択し得る。

【００３９】

前記方法は、複数の生体試料が発する物理化学的信号を計測し得、前記工程（Ａ）の後で、前記生体試料の各々について取得されたデータ群を加算する工程をさらに包含し得る。

【００４０】

前記方法は、複数の生体試料が発する物理化学的信号を計測し得、前記工程（Ａ）の後で、前記生体試料の各々について取得されたデータ群を減算する工程をさらに包含し得る。

【００４１】

前記方法は、複数の生体試料が発する物理化学的信号を計測し得、前記工程（Ａ）の前に、前記生体試料の各々を同時に刺激する工程をさらに包含し得る。

【００４２】

前記工程（Ｄ）における参照は、前記標準偏差の各々を一定幅の標準偏差を単位とする複数の階級に分類し、前記複数の標準偏差を、前記階級と、前記階級の各々に存在する前記標準偏差の個数とを軸とする座標上にプロットすること、得られたグラフを、指数減少、指数増加、ガウス、ローレンツ、シグマ、多重ピー

クおよび非線形からなる群より選択される曲線近似解析により近似すること、および得られた近似曲線の頂点の前後における傾きを得ることを包含し得る。

【００４３】

前記工程（Ｂ）における選択は時系列的に行われ得る。

【００４４】

前記方法において、前記工程（Ｂ）～（Ｄ）は繰り返されてもよく、この場合、前記工程（Ｂ）における選択は時系列的に行われ、各繰り返しにおける前記抽出データ群の最初のデータは一定の時間間隔をおいて選択され、そしてこの方法は、各繰り返しで得られる標準偏差群の各々の平均値を比較する工程をさらに包含し得る。

【００４５】

前記方法において、前記工程（Ｂ）～（Ｄ）は繰り返されてもよく、この場合、前記工程（Ｂ）における選択が時系列的に行われ、各繰り返しにおける前記抽出データ群の最初のデータが一定の時間間隔おいて選択され、そしてこの方法は、各繰り返しで得られる標準偏差群の各々の正規分布の平均値を比較する工程をさらに包含し得る。

【００４６】

前記方法において、前記（Ｂ）～（Ｄ）は繰り返されてもよく、この場合、前記工程（Ｂ）における選択が時系列的に行われ、各繰り返しにおける前記抽出データ群の最初のデータが一定の時間間隔おいて選択され、そしてこの方法は、各繰り返しで得られる標準偏差群の各々の正規分布の半値幅、分散または標準偏差を比較する工程をさらに包含し得る。

【００４７】

前記方法において、前記工程（Ｄ）における参照は、前記標準偏差群から複数の抽出標準偏差群を得ることを包含し得、ここで前記抽出標準偏差群の各々が前記標準偏差群から時系列的に選択される一定の個数の標準偏差から構成され、そしてこの方法は、前記一定の個数の標準偏差の平均値および平均値の時系列的な増加率を計算する工程、得られる抽出標準偏差群の各々の平均値を、あらかじめ設定された設定値と比較する工程、前記設定値と一致するか、またはそれより大

きい平均値を与える標準偏差群に対応する時系列信号の発生時刻（ａ）を同定する工程、前記（ａ）の後の抽出標準偏差群の平均値の時系列的な増加率を、あらかじめ設定された設定値と一致するか、またはそれより小さい増加率を与える標準偏差群に対応する時系列信号の発生時刻（ｂ）を同定する工程、前記発生時刻（ａ）および（ｂ）に基づいて有意信号を得る工程をさらに包含し得る。

【００４８】

なお、本明細書で用いる用語、生体試料の発する「物理化学的信号」は、細胞などに代表される生体構成成分が発生する信号のうち、細胞のイオンチャンネルのような、測定対象の特定部位から発生する信号、または、薬剤に応答する細胞のイオンチャンネルの活性化のような、測定対象における特定の事象に起因して変化した信号を意味する。そして、本明細書で用いる用語「有意信号」または「有意な信号」は、主に、後者の意味、すなわち、測定対象における特定の事象に起因して変化した信号をいうために用いられる。

【００４９】

前記生体試料は細胞であり得、そして前記物理化学的信号は、イオンチャンネル、受容体の活性化、または細胞内信号伝達系の作動にともなう有意信号であり得る。

【００５０】

前記生体試料が細胞であり得、そして前記物理化学的信号は、被検化学物質に対して応答する細胞が発生する有意信号であり得る。

【００５１】

前記工程（Ａ）は、前記細胞に対する作用が既知である標準化学物質の存在下、および前記被検化学物質の存在下でそれぞれ実施され得、この方法は、前記標準化学物質の存在下で得られる前記平均値と、前記被検化学物質の存在下で得られる前記平均値とを比較する工程をさらに包含し得る。

【００５２】

前記方法において、前記生体試料は細胞であり、そして前記物理化学的信号は、被検化学物質に対して応答する細胞が発生する有意信号であって、前記工程（Ａ）は、前記細胞に対する作用が既知である標準化学物質の存在下、および前記

標準化学物質と前記被検化学物質との共存下でそれぞれ実施され、この方法は、前記標準化学物質の存在下で得られる前記平均値と、前記標準化学物質と前記被検化学物質との存在下で得られる前記平均値とを比較する工程をさらに包含し得る。

【００５３】

本発明はまた、１つの局面で、被験体化学物質の生体試料に対する作用を測定する装置に関し、この装置は、前記デバイス、生体試料から発生した時系列信号を、複数のデータからなるデータ群として取得する手段、前記データ群から、複数の抽出データ群を取得する手段であって、前記抽出データ群の各々が、前記データ群から選択される一定の個数のデータから構成される手段、前記複数の抽出データ群の標準偏差を計算し、標準偏差群を得る手段、および前記標準偏差群を構成する標準偏差の各々を参照し、物理化学的信号を選択する手段、を備え得る。

【００５４】

本発明のデバイスは、多孔性絶縁基板にスパッタなどの技術で測定電極が形成され、多孔性絶縁基板の深部まで電極材料が含浸しているので、効率よく細胞の物理化学的活動を測定することが可能である。さらに、本発明のデバイスでは、多孔性絶縁基板の測定電極が形成される側面に近接する空間には、吸引によって引き込まれる電解液（通常Ｋｒｅｂｓ　ｒｉｎｇｅｒ溶液）だけが存在する。その量は、多孔性絶縁基板内に存在する電解液を含めせいぜい１～１０μｌ程度である。従って、例えば、ＷＯ０１／２５７６９　Ａ２に記載のような従来デバイスのように吸引系を電解液で満たすことは必要ない。それ故、本発明のデバイスは、細胞と電極との間で高シールドを形成しなくても細胞の活動状況を測定できる。

【００５５】

【発明の実施の形態】

添付の図面を参照して、本発明を説明する。

【００５６】

（実施の形態１）

図１は、本発明による生体試料の物理化学的信号を検出するデバイスの１例の概略断面図である。このデバイスは、多孔性絶縁基板５の生体試料を配置する側の面に、生体試料（代表的には細胞）の物理化学的信号を検出する測定電極１を形成し、この測定電極１から導電線２が導出されるように構成されている。

【００５７】

代表的には、多孔性絶縁基板５としてナイロンメッシュを用いるが、これに限定されず、セルロース混合エステル、親水性ポリビニリデンジフロライド、疎水性ポリビニリデンジフロライド、ポリテトラフルオロエチレン、ポリカーボネート、ポリプロピレン、ポリエチレンテレフタレートなどを用いてもよい。具体的には、アイソポア（ポリエチレンテレフタレート製：ミリポア社製）やオムニポア（ポリテトラルフルオロエチレン製：ミリポア社製）などが本発明に用いられる多孔性絶縁基板である。

【００５８】

本発明で用いる多孔性絶縁基板５として、通常、１～１０００μｍの孔径および１～１００００μｍの厚さのサイズを有するものが選択される。代表的なサイズは５μｍの孔径および１０μｍの厚さである。

【００５９】

なお、以下に説明するように、測定電極１を形成する際、スパッタ時間を調節することにより、形成される電極厚みを調節できるため、１００μｍ以上の厚さの多孔性絶縁基板材料も好適に用いられ得る。

【００６０】

測定電極１および導電線２は、代表的には、導電性材料（代表的には金）のスパッタにより形成される。導電性材料をスパッタする方法は、当業者に公知である。例えば、金を用い、アルゴンなどの不活性ガスの存在下、低真空条件にある電極間で高周波によりプラズマを発生し、陰極上の金をイオンのエネルギーではじき飛ばし、対向する陽極上にある多孔性フィルム上に形成する。あるいは真空蒸着法などの方法を用い電極および導電線を形成してもよい。さらに印刷により形成することも可能である。

【００６１】

導電線２は、あらかじめ多孔性絶縁基板５をマスクで覆って（図示せず）パターニングし、多孔性絶縁基板５の深部に導電性材料が侵入するのを防いで形成される。これに対し、測定電極１のスパッタ時には、マスクを用いず、むしろ多孔性フィルム５の深部に電極材料が侵入するように形成するのが好ましい。スパッタされて形成される測定電極１の形状は、通常、円板状であるが、測定対象に応じて任意の形状とされる。そして測定電極１のサイズもまた、測定対象に応じて任意の形状であり得るが、通常、細胞隔離部３によって規定される被験体試料を収容するチャンバの水平方向の断面積に相当する表面積を有するように形成される。

【００６２】

次に、測定電極１および導電線２が配置された多孔性フィルム５を支持基板６に固定する。そして多孔性フィルム５の表面には、細胞隔離部３を接着剤で圧着して接着層４を形成する。この接着層４は、細胞培養液または測定液２３が多孔性フィルム５を通して染み出さないようにする。細胞隔離部３は、細胞培養液または測定液２３を収容するチャンバを規定する。チャンバの側壁には基準電極７が培養液に浸漬されるように配置されている。なお、図１において参照番号２１で示される部材は、チャンバ内の細胞培養液または測定液２３の蒸発を防ぐ蓋であるが、必要に応じて用いられるものであり、常に必要なわけではない。

【００６３】

支持基板６には、吸引ラインを構成する吸引ラインアタッチメント８を、支持基板-吸引ラインアタッチメント接着層９を介して固定する。多孔性絶縁基板５の上面には、培養液が５０マイクロリットルが存在し、そして多孔性絶縁基板５の下面には培養液がごくわずか存在するように吸引ラインアタッチメント８を配置する。多孔性絶縁基板５の上面と下面にある培養液の容積比率は、通常、５０：１以上で上面にある培養液の方が多い。本明細書では、多孔性絶縁基板５の表面側にある培養液が占めるチャンバ内の容積を「基準電極が配置される領域」、そして多孔性フィルム５の裏面側の測定電極１の近傍にある培養液が占める容積を「測定電極が配置される領域」という。

【００６４】

多孔性絶縁基板５の上面に配置した測定電極１は、図２に示したように、生体試料に接触するか、または極近傍に存在するように多孔性絶縁基板の厚さを選択する。通常、生体試料と測定電極１との間の距離が５０μｍ以内となるようにする。好ましくは、測定電極１と細胞２５とが接触するようにする。代表的には、測定時に、図１に示した支持基板６の下側に配置した細胞吸引系ラインより、引圧をかけて、細胞２５を測定電極１に密着させ、それによって細胞の物理化学的信号を高感度に検出する。図２の右下に示す図は、細胞２５の近傍の構造を拡大した図である。

【００６５】

多孔性フィルム５は、試験する薬品候補化合物を含む溶液の取り扱いを容易にする。すなわち、被験溶液は、デバイスに備え付けた吸引ラインアタッチメントを通して吸引することにより（図１の中央の矢印で示される）、多孔性絶縁基板上面に存在する液をすべて短時間のうちに入れ替えることができる。

【００６６】

（実施の形態２）

図３は、本発明の生体試料の発する物理化学的信号を検出するデバイスの他の１例の概略平面図である。本デバイスでは１６の測定電極１を設け、各測定電極は、直径２ｍｍのサイズを有し、それぞれ間隔１ｍｍの間隔を置いてマトリックス状に配置されている。図３は、デバイスを上面から観察したときのイメージ図である。図において、基準電極７およびこれに接続する導電線１２は、通常透明である細胞隔離部３（図示せず）に規定される生体試料を収容するチャンバの内壁および細胞隔離部３の表面にそれぞれ配置され、そして測定電極１およびこれに接続する導電線２は、多孔性絶縁基板５の裏面に配置されている。図３では、ほぼ円型形状の１６の測定電極１を設ける例を示したが、測定対象に応じて、任意の形状および面積の測定電極を、適切な間隔を置いて任意の数だけ設置してデバイスを構成し得る。通常、測定電極の面積は、１μm^2～１cm^2の範囲、形状は、ほぼ円または矩形であり、そして測定電極間の間隔は、１０～１００００μｍの範囲でマトリックス状に配置される。

【００６７】

図４の左の図は、図３に示すデバイスを構成する、多孔性絶縁基板５の上にある構造の概略を示し、（Ａ）は略平面図、そして（Ｂ）は略断面図である。図４の左の図の（Ａ）に示されるように、リング状の基準電極７は細胞隔離部３が規定するチャンバの内壁に配置され、基板の４辺まで導電線によって導出されている。

【００６８】

図４の右の図は、図３に示すデバイスを構成する多孔性絶縁基板５の下にある構造の概略を示し、（Ａ）は略平面図、そして（Ｂ）は略断面図である。図５の右の図の（Ｂ）に示されるように、図中斜線で示される測定電極１は、導電性材料をスパッタすることにより、多孔性絶縁基板５の中に含浸して形成される一方、導電線２は、フィルタ５との間にマスク層１０を挟むことによって、フィルタ深部に導電性材料が侵入しないようにスパッタされている。

【００６９】

図５および図６は、図３に示すデバイスの略断面図であり、図５は、基準電極７の構造をより詳細に示し、図６は、測定電極の構造をより詳細に示す。図６の（Ａ）は、測定電極の構造を示す略断面図、そして図６の（Ｂ）は、１６の測定電極を備えたデバイスの測定電極およびそれに接続する導電線の配置状況の概略を示す略平面図であって、図中Ｘで示される部分の断面が図６の（Ａ）に示される。

【００７０】

図５に示されるように、基準電極７は、細胞隔離部３によって規定されるチャンバの内壁に沿ってほぼ環状の構造を備え、細胞隔離部３の上面に沿って形成された導電線によって導出され、図中楕円で示される測定対象細胞２５の物理的変化を検出するための基準電位を与える。例えば、基準電極は、Ａｇ－ＡｇＣｌで構成される。また図６の（Ａ）に示されるように、測定電極１は、測定対象である細胞と接触またはその近傍に配置されるように、電極材料を多孔性絶縁基板５中に含浸して形成され、その一方、これに連絡する導電線２は、多孔性絶縁基板５との間にマスク層１０を挟持して配置される。

【００７１】

（実施の形態３）

図７は、上記の生体試料の発する物理化学的信号を検出するデバイスを備え、生体試料のイオンチャンネル活性度を測定して抽出するように構成された装置の構成の概念図である。本装置は、上記の生体試料の発する物理化学的信号を検出するデバイスを備え、神経細胞から発生した活動電位を測定する測定部（信号源）１０１、測定部１０１からの信号をサンプリングし、標準偏差の計算を行う単位標準偏差計算部１０２、得られた標準偏差の平均値を計算する平均値計算部１０５、および平均値計算部１０５から出力された標準偏差の平均値から、細胞のイオンチャンネル活性度を計算する活性度計算部１０８、および得られた活性度を表示するデータ表示部１１０を備える。各部の連絡は図８中、点線または実線で示される。なお、代表的には、上記の単位標準偏差計算部１０２、平均値計算部１０５、および活性度計算部１０８は、これらの計算を実行するためのプログラムが記録されたハードディスクを内蔵するコンピュータである。そして上記データ表示部１１０はＣＲＴである。

【００７２】

なお、図８中、参照番号１０３、１０４、１０６、１０９は、それぞれ以下で説明する、正規分布近似部、刺激発生部、平均値・半値幅計算部、活性度分類部である。

【００７３】

図３に示すセンサ基板を測定部（信号部）１０１に備えた図８に示す構成の装置を用い、モノアラガイより調製した神経細胞を材料に、化学物質Ｃａｒｂａｃｈｏｌの神経細胞に対する作用を測定した。Ｃａｒｂａｃｈｏｌは、神経伝達物質であるアセチルコリンのアナログであることが知られる化学物質である。Ｃａｒｂａｃｈｏｌ（Ｓｉｇｍａ社製）を人工脳－脊髄液に溶解し、０、０．１、０．３、１、３、１０、３０、および１００μＭの濃度で作用させたときの電気的信号をそれぞれ測定した。各Ｃａｒｂａｃｈｏｌ濃度について、センサ基板を備えた測定部（信号源）１０１から得た１０秒間の時系列データから、１００ミリ秒ごとの時系列データをサンプリングして標準偏差を計算した。得られた標準偏差の平均値をプロットした結果を図１１に示す。

【００７４】

図１１に示すように、Ｃａｒｂａｃｈｏｌ濃度が大きいほど、１００ミリ秒毎の標準偏差値の平均値が大きいことを確認した。これは、Ｃａｒｂａｃｈｏｌ濃度に依存して、モノアラガイの神経細胞のイオンチャンネルが活性化されたことを示す。さらに、このデータにより神経細胞の全チャンネル活性度を類推することが可能である。

【００７５】

（実施の形態４）

図９もまた、上記の生体試料の発する物理化学的信号を検出するデバイスを備え、生体試料のイオンチャンネル活性度を測定して抽出するように構成された装置の構成の概念図である。本装置は、図８に示す装置の平均値計算部１０５および活性度計算部１０８の代わりに、正規分布近似部１０３、平均値・半値幅計算部１０６、および活性度分類部１０９を用いる。各部の連絡は図９中、点線または実線で示される。

【００７６】

正規分布近似部１０３は、単位偏差値計算部で得られた複数の標準偏差の値を、一定幅の標準偏差を単位とする、複数の階級に分類し、この階級をＸ軸とし、各階級に存在する標準偏差の個数をＹ軸とする座標上に計算された標準偏差値をプロットし、得られたグラフを正規分布に近似する。平均値・半値幅計算部１０６は、得られた正規分布の平均値および半値幅を計算する。活性度を分類する活性度分類部１０９は、得られた平均値および半値幅からイオンチャンネル活性度を分類する。なお、代表的には、図８に示される装置と同様に、上記の単位標準偏差計算部１０２、正規分布近似部１０３、平均値・半値幅計算部１０６および活性度分類部１０９は、これらの計算を実行するためのプログラムが記録されたハードディスクを内蔵するコンピュータである。そして上記データ表示部１１０はＣＲＴである。

【００７７】

図３に示すセンサ基板を備えた図９に示す構成の装置を用い、モノアラガイより調製した神経細胞を材料に、化学物質Ｃａｒｂａｃｈｏｌの神経細胞に対する

作用を測定した。

【００７８】

モノアラガイの神経細胞に対し、５０μM濃度のＣａｒｂａｃｈｏｌを投与する前後で、センサ基板を備えた測定部（信号源）１０１から得た信号から、実施例１とほぼ同様にして標準偏差を計算した。正規分布部１０３でプロットされた標準偏差のグラフを図１２に示す。

【００７９】

図１２はＣａｒｂａｃｈｏｌを投与する前の１０秒間の電気信号の時系列データを５ミリ秒毎に計算して得た標準偏差の値のヒストグラム（図１２の左のピーク）とＣａｒｂａｃｈｏｌ投与後の１０秒間の電気信号の時系列データを５ミリ秒毎に計算して得た標準偏差の値のヒストグラム（図１２の右のピーク）である。図１２に示されるように、Ｃａｒｂａｃｈｏｌ投与前後のヒストグラムを正規分布により近似して求めたグラフの平均値および半値幅は、投与前ではそれぞれ０．４７８および０．１０９、投与後ではそれぞれ０．７０３および０．１７５であった。このように、Ｃａｒｂａｃｈｏｌ投与前後で、５ミリ秒毎の標準偏差値の平均値が増加していることが確認された。これは、Ｃａｒｂａｃｈｏｌを投与することによって、モノアラガイ神経細胞のイオンチャンネルが活性化され、その活性化されたチャンネルの開閉による活動電位の変動が表されているためである。

【００８０】

図１３に、従来の細胞内記録法を用いて得たデータに同様の信号処理を加えたときの５ミリ秒毎の標準偏差値のヒストグラムを示す。図１３に示す結果と図１２に示す結果から、細胞外記録法による測定結果は細胞内記録法によるものと同様の結果であることがわかる。

【００８１】

このように、本発明の方法により、従来の細胞内記録法を行わなくても、簡便にイオンチャンネルの開閉に伴う細胞活動、およびその変化を測定し得ることが示された。従って、本発明により、イオンチャンネル活性度の測定、および細胞への薬物投与の前後またはその投与量に対するイオンチャンネル活性度の絶対値

やチャンネル活性度の増減を比較することによって、薬物の作用効果の定性的または定量的な分類を行うことが可能である。

【００８２】

（実施の形態５）

平滑筋細胞のＣａイオンチャンネルの活性は、ノルエピネフィリン１０μＭ刺激時に、ニフェジピンにより濃度依存的に阻害されることが、細胞内記録法などによって確認されている。細胞内記録データによるニフェジピンの阻害効果は、標準偏差群の正規分布の平均値の基準値からの変化量（相対的移動値）と、半値幅の基準値からの変化量（相対的広がり）の２つの変数により表されプロットされる。図１４にそのプロットを示す。図１４の丸が、変化する濃度（０．０３～３０μＭ）のニフェジピンのプロットである。

【００８３】

この細胞内記録によるニフェジピンのＣａイオンチャンネルに対する効果をデータベースとして、上記実施の形態４と同様に、細胞外記録で測定した２種類のＣａチャンネル阻害薬ＡおよびＢの作用効果の分類を試みた。ＡおよびＢの濃度を０．０３～３０μＭの範囲で変化させ、実施例２と同様の方法で、細胞のイオンチャンネル活性度を測定した。得られた結果を、ニフェジピンと同様に、標準偏差群の正規分布の平均値の基準値からの変化量（相対的移動値）と、半値幅の基準値からの変化量（相対的広がり値）の２つの変数により表されプロットした。図１４に示す三角が化合物Ａについての、そして図１４に示す四角が化合物Ｂについての測定結果のプロットである。図１４に示されるように、化合物Ａ（三角）は、ニフェジピン（丸）と、測定された濃度範囲において、濃度依存的にほぼ同様の挙動を示し、ニフェジピンと同様のＣａイオンチャンネル阻害剤であると推定された。これに対して、化合物Ｂは、上記相対的移動値および相対的広がり値は、ほとんど変化が無いことから、平滑筋細胞には存在しないタイプのＣａイオンチャンネルブロッカーである可能性が高いことがわかる。

【００８４】

このように、本発明の方法により、未知の薬剤の効果を推定することが可能である。さらに、例えば図１４で示すように、上記相対的移動値および相対的広が

り値について、それぞれの変化量が５％以内を示す円を閾値（つまり、この円の中にプロットされる測定値を与える濃度、または薬剤効果がないと判定される）として薬剤評価を行えば、効率的に薬品スクリーニングを行うことが可能となる。

【００８５】

上記の例では、正規分布の平均値の基準値からの変化量および半値幅の基準値からの変化量を用いたが、標準偏差と分散の対応するパラメータを用いて薬剤の作用効果の推定を行ってもよい。

【００８６】

以上のように、本発明においては、基準電極および測定電極の配置環境または特性が、生体試料の電気的特性の変化を特徴付けるように適合されているので、生体試料を傷つけることなく生体試料と測定用デバイスの間に高抵抗のシールド（ギガシールド）を形成しなくても、生体試料の電気的変化を計測することができる。さらに、本発明においては、生体試料の電気的特性の変化を検出する工程、代表的には、一定のサンプリング速度で取り込まれたデジタル信号（所定の時系列データ）を処理するので、ノイズ中からイオンチャンネルの開閉を代表する有意信号を抽出、測定および分類することができる。

【００８７】

なお、上記実施の形態では、図８または図９に概略を示す装置を用いたが、これに代えて、図１０または図１１に概略を示す構成の装置を用いてもよい。

【００８８】

図１０に示す装置は、図８に示す装置に加えて、参照番号１１１で示されるサンプル数振り分け部を備える。

【００８９】

図１１に示す装置は、図９に示す装置において、本発明の上記デバイスを備えた信号源１０１を複数備え、さらにこれらの信号部に刺激を与える信号発生部１０４を備える。

【００９０】

【発明の効果】

本発明によって、従来の細胞外記録方法では検出することが不可能であった、生体試料が発する微細な物理化学的信号の変化を容易かつ高い信頼性で検出し得るデバイス、およびそれを用いる生体試料の物理化学的信号を測定する方法および装置が提供される。

【００９１】

特に専用の制御装置を必要としない簡易なデバイスにより、細胞をチャンバー内の多孔性フィルムに配置するだけで細胞と絶縁基板（支持基板）にギガシールドを形成することなく容易に短時間で測定が可能であり、かつ化学物質を利用しないため、副作用や蛍光感度の経時変化を考慮する必要のない、細胞全体に渡るマクロなチャンネル活性度、すなわち細胞の発する物理化学的信号を計測し得るデバイス、およびそれを用いる生体試料の物理化学的信号を測定する方法および装置が提供される。

【００９２】

本発明のデバイスは、高速薬品スクリーニング、がん細胞と正常細胞とを識別するなどの細胞診断、しかも、これを手術現場でオンサイトで行う装置などに適用可能である。

【図面の簡単な説明】

【図１】

本発明による生体試料の物理化学的信号を検出するデバイスの概略断面図。

【図２】

本発明による生体試料の物理化学的信号を検出する方法の原理を示す概略図。

【図３】

本発明の生体試料の発する物理化学的信号を検出するデバイスの概略平面図である。

【図４】

図４の左の図は、図３に示すデバイスを構成する、多孔性絶縁基板５の上にある構造の概略を示す図であり、（Ａ）は略平面図、そして（Ｂ）は略断面図である。図４の右の図は、図３に示すデバイスを構成する多孔性絶縁基板５の下にある構造の概略を示し、（Ａ）は略平面図、そして（Ｂ）は略断面図である。

【図５】

本発明のデバイスの略断面図。

【図６】

本発明のデバイスの略部分断面図。

【図７】

本発明の装置の構成の概略を示す図。

【図８】

本発明の装置の改変例の構成の概略を示す図。

【図９】

本発明の装置の改変例の構成の概略を示す図。

【図１０】

本発明の装置の改変例の構成の概略を示す図。

【図１１】

本発明の装置を用いて測定した、モノアラガイの神経細胞の、Ｃａｒｂａｃｈｏｌに対する反応の濃度依存性を示す図。

【図１２】

本発明の装置を用いて測定した、モノアラガイの神経細胞の、Ｃａｒｂａｃｈｏｌ投与前後の測定結果を示す図。

【図１３】

従来の細胞内記録法を用いて測定した、モノアラガイの神経細胞の、Ｃａｒｂａｃｈｏｌ投与前後の測定結果を示す図。

【図１４】

本発明の、薬剤の作用効果を分類する方法を示す図。

【符号の説明】

1　測定電極

2　導電線

3　細胞隔離部

4　接着層

5　多孔性フィルム

6　支持基板

7　基準電極

8　吸引ラインアタッチメント

9　支持基板－吸引ラインアタッチメント接着層

１２　導電線

２１　蓋

２３　培養液

２５　細胞

１０１　信号源

１０２　単位偏差値計算部

１０３　正規分布近似部

１０４　トリガ信号発生部

１０５　平均値計算部

１０６　平均値・半値幅計算部

１０７　信号加算部

１０８　活性度計算部

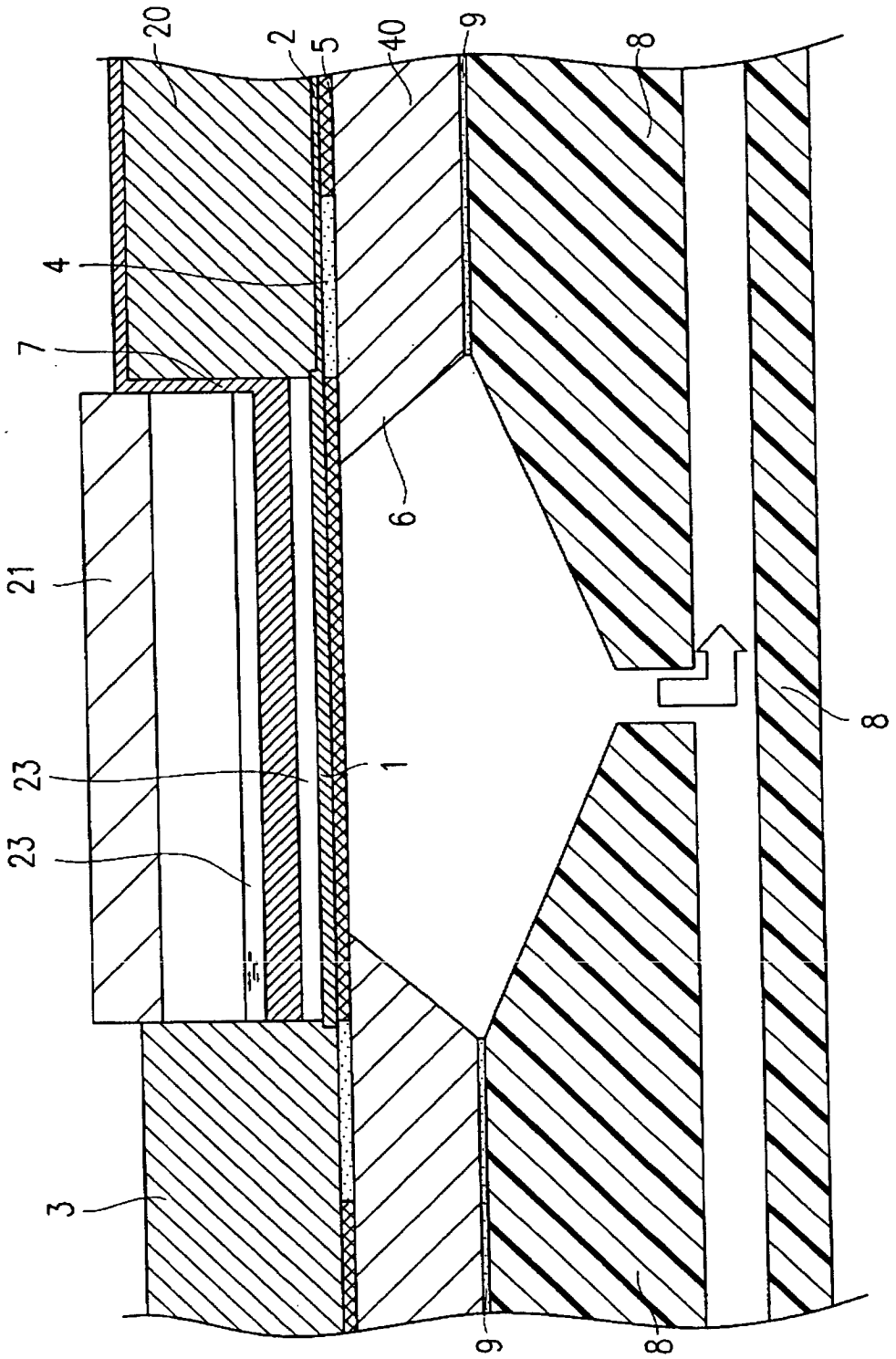
１０９　活性度分類部

１１０　データ表示部

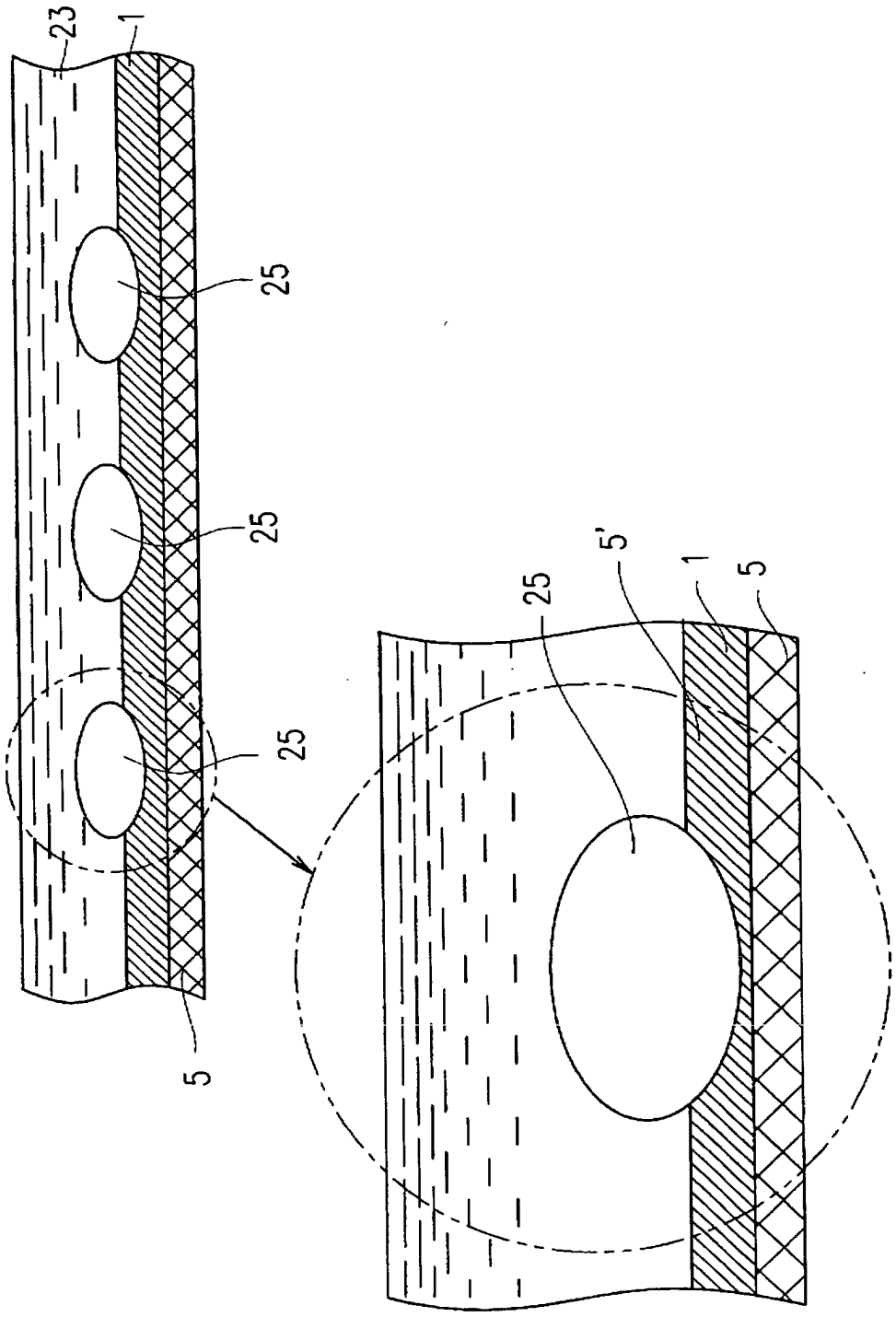
１１１　サンプル振り分け部

【書類名】　図面

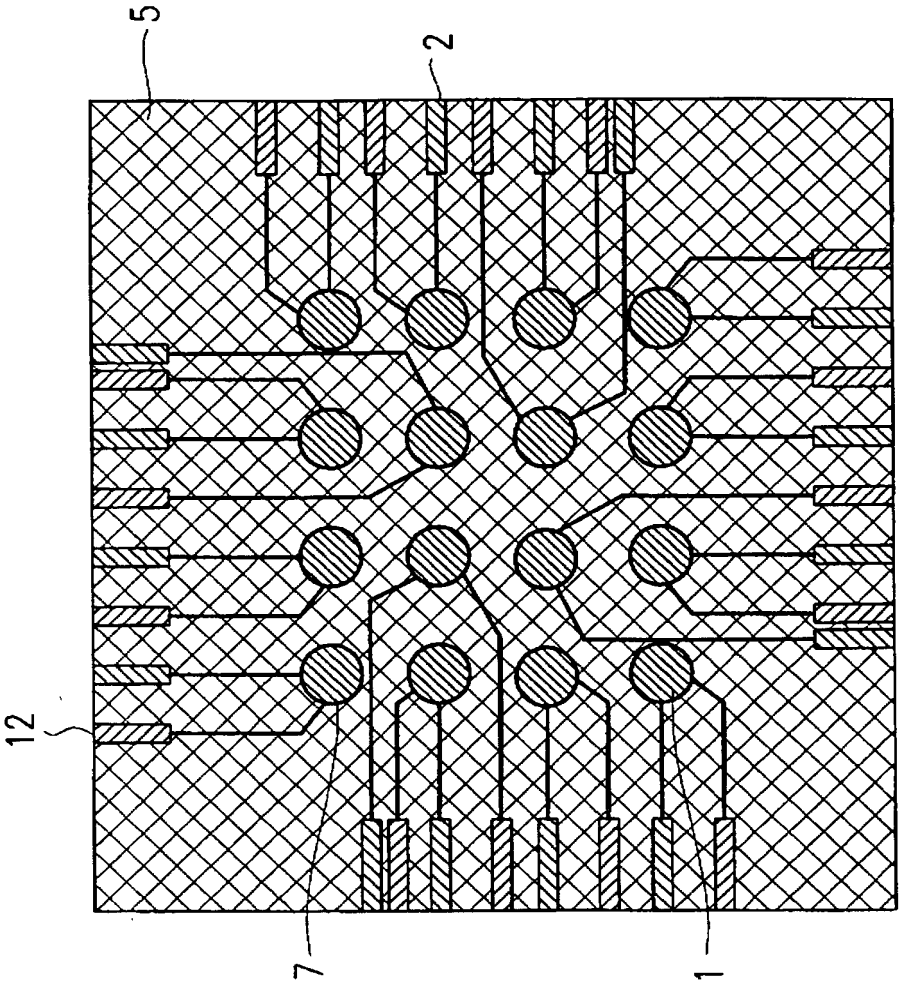
【図１】



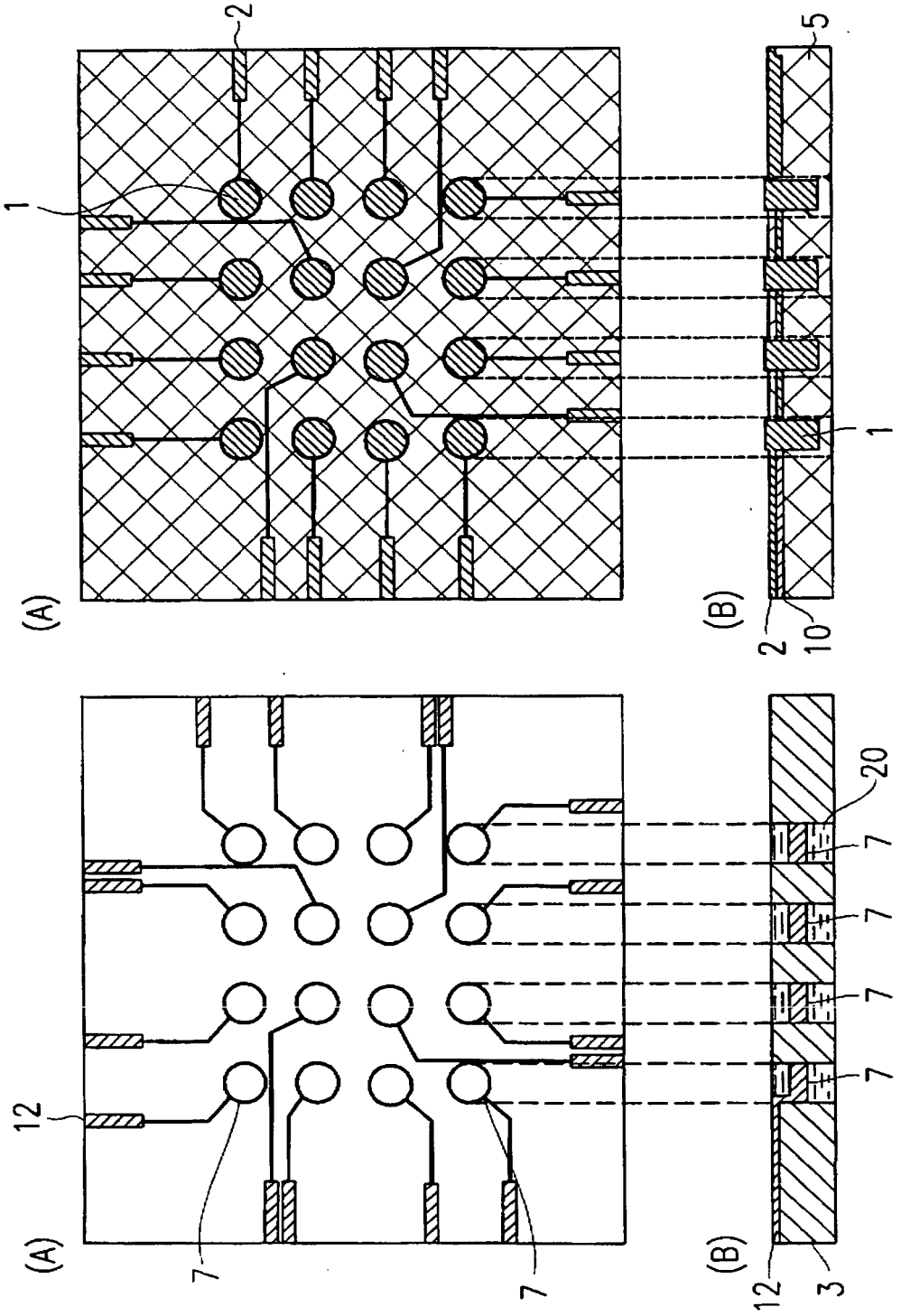
【図２】



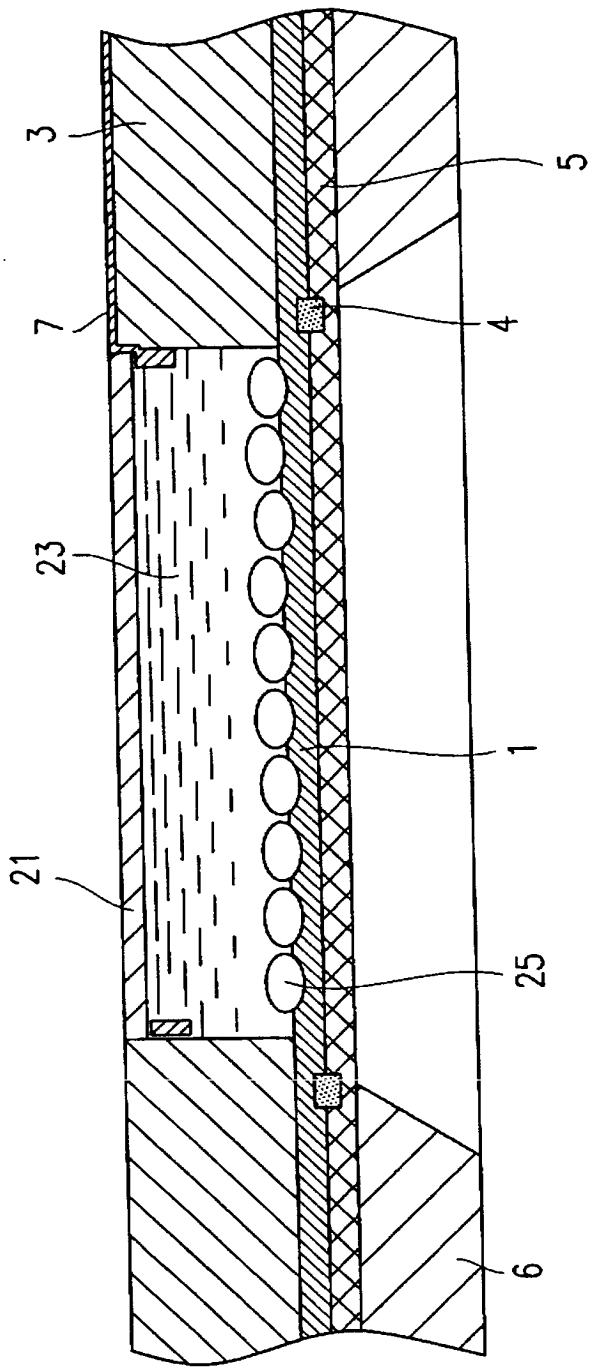
【図３】



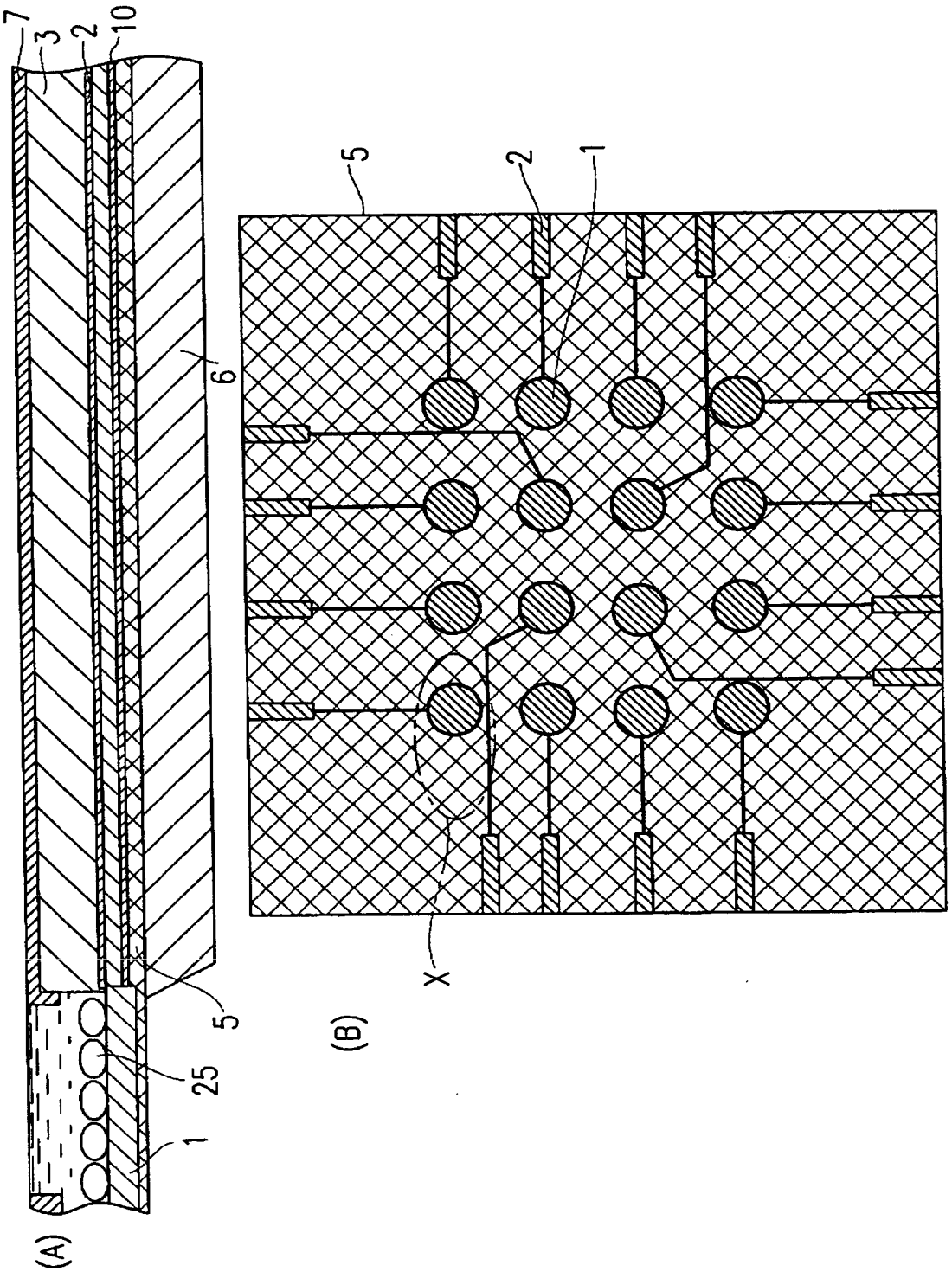
【図４】



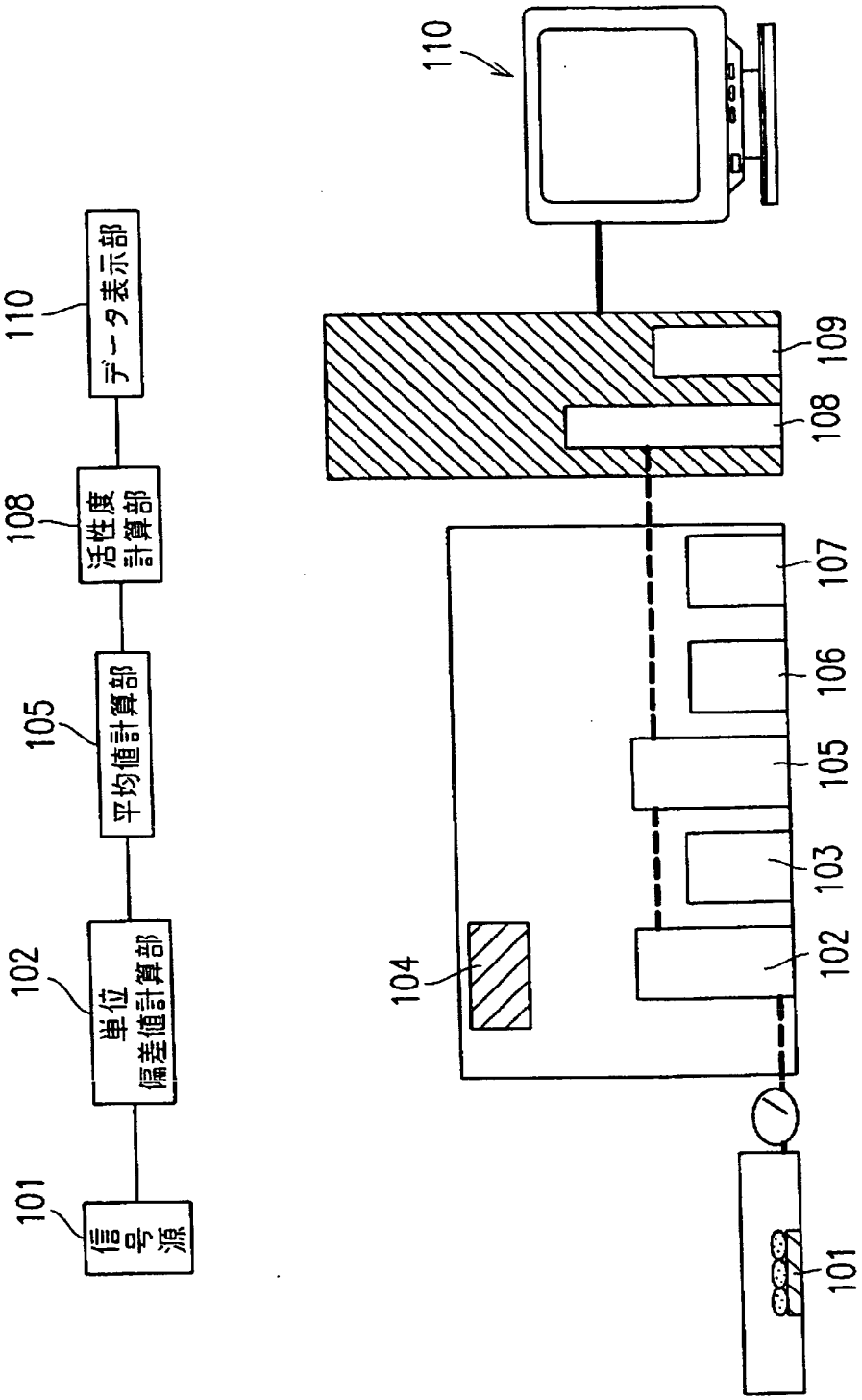
【図５】



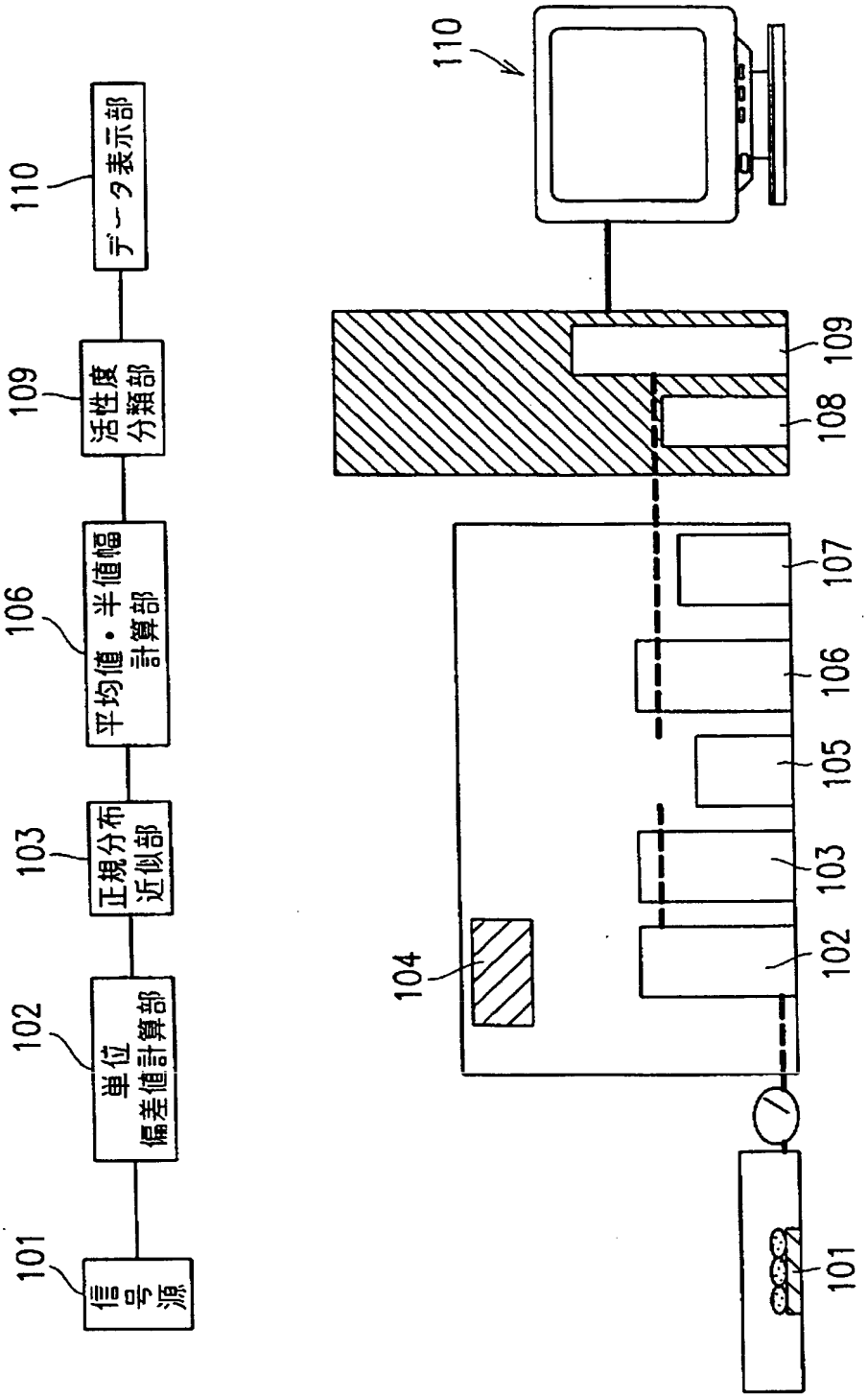
【図６】



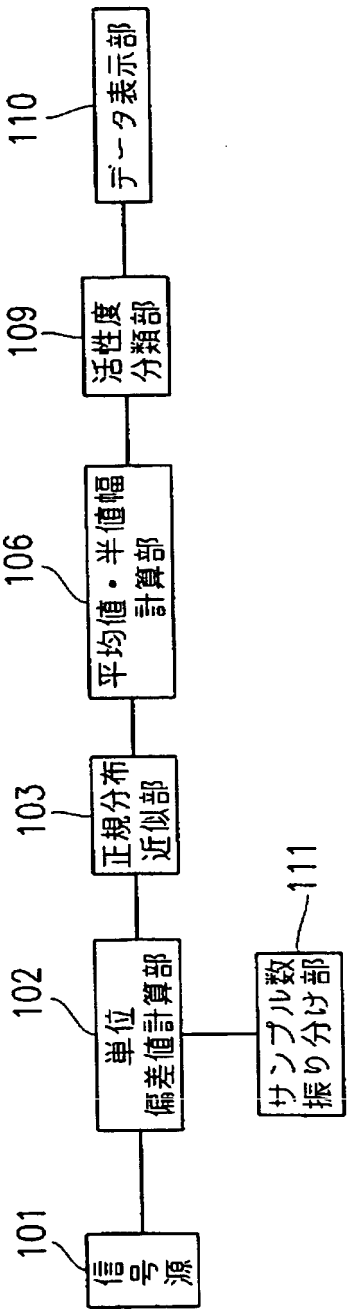
【図７】


110
データ表示部
108
活性度計算部
105
平均値計算部
102
単位偏差値計算部
101
信号源
110
109
108
107
106
105
103
102
104
101

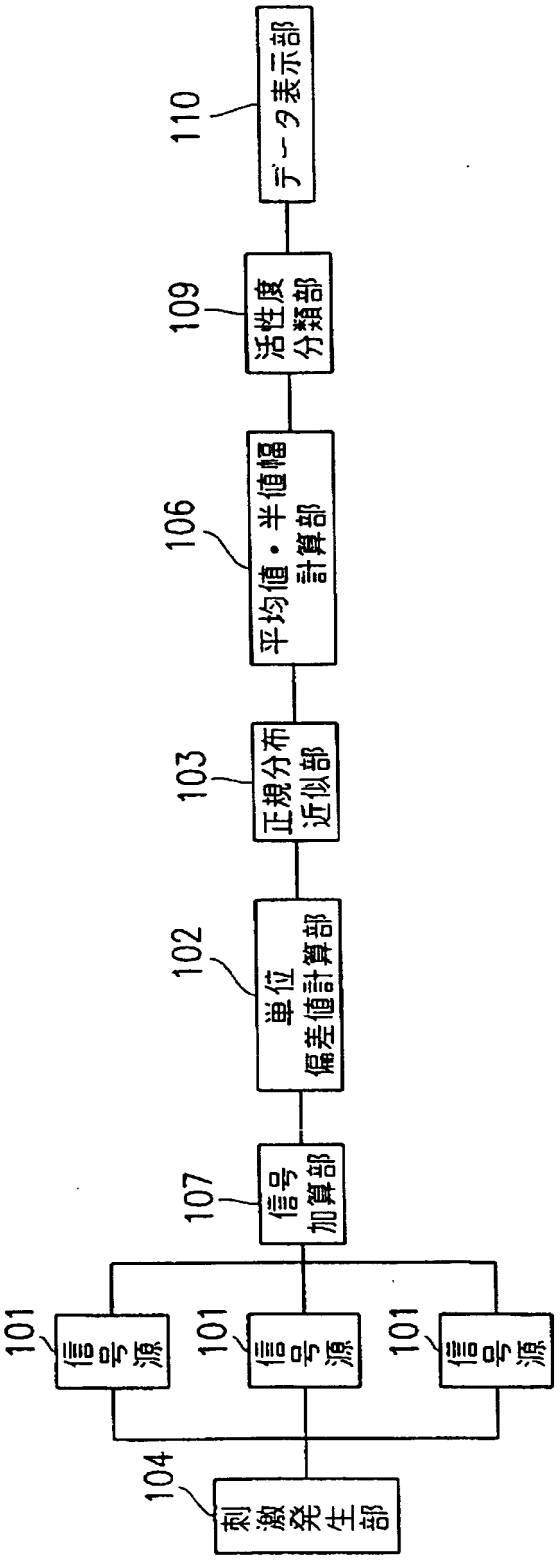
【図８】


110
データ表示部
109
活性度分類部
106
平均値・半値幅計算部
103
正規分布近似部
102
単位偏差値計算部
101
信号源
110
109
108
107
106
105
103
102
104
101

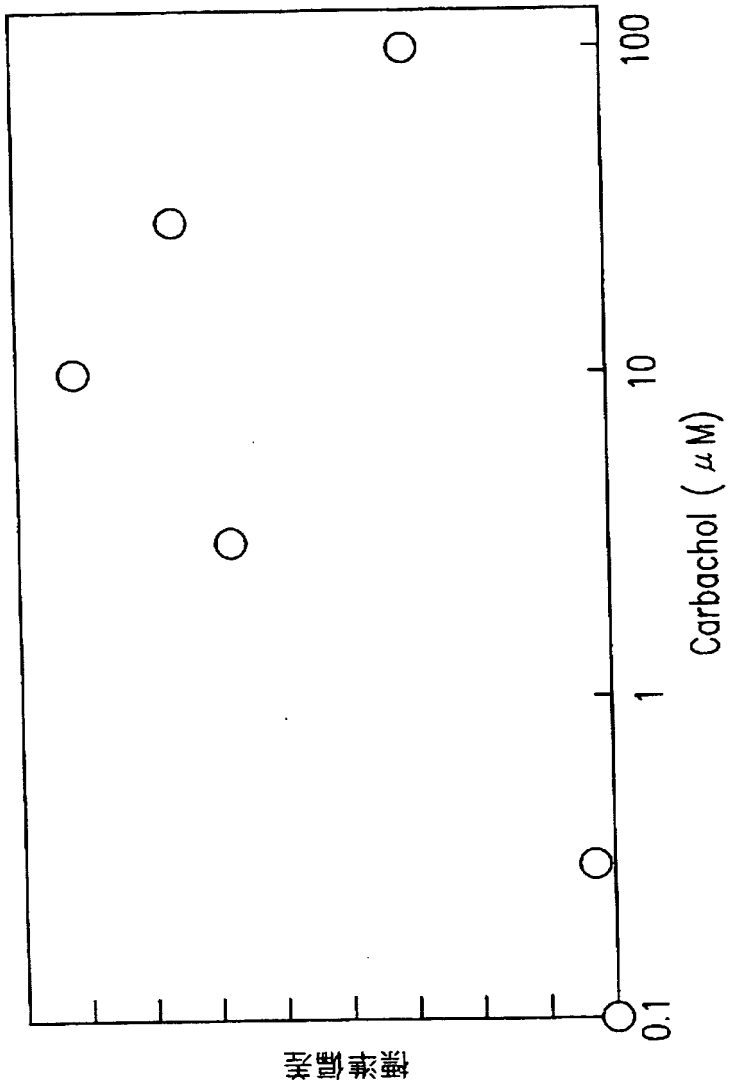
【図９】


101
信号源
102
単位偏差値計算部
103
正規分布近似部
106
平均値・半値幅計算部
109
活性度分類部
110
データ表示部
111
サンプル数振り分け部

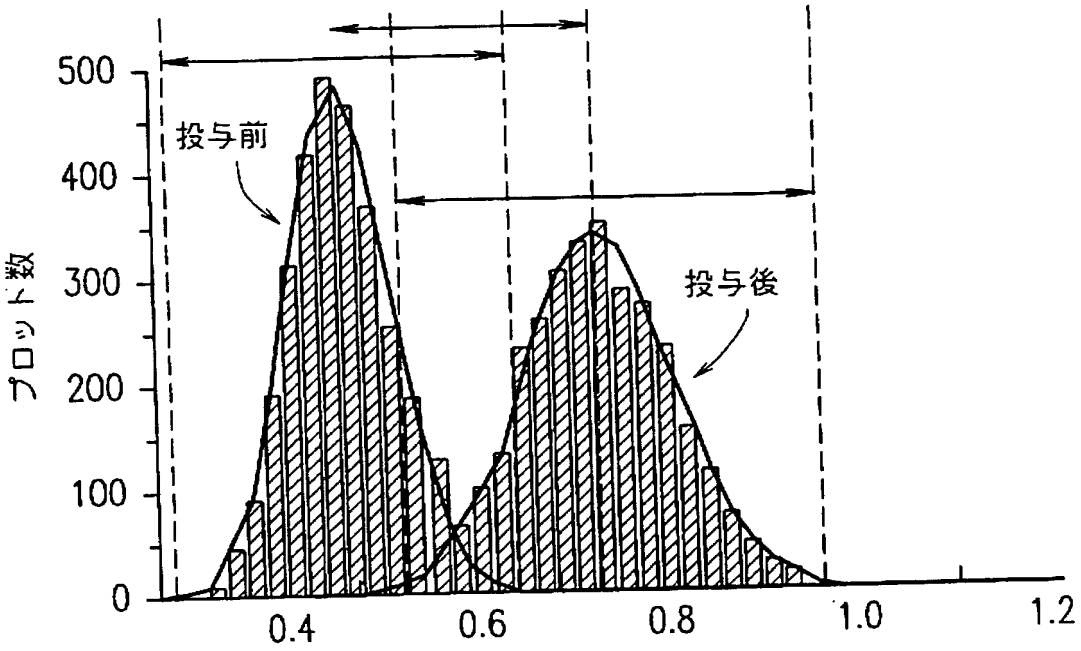
【図１０】


110
データ表示部
109
活性度分類部
106
平均値・半値幅計算部
103
正規分布近似部
102
単位偏差値計算部
107
信号加算部
101
信号源
101
信号源
101
信号源
104
刺激発生部

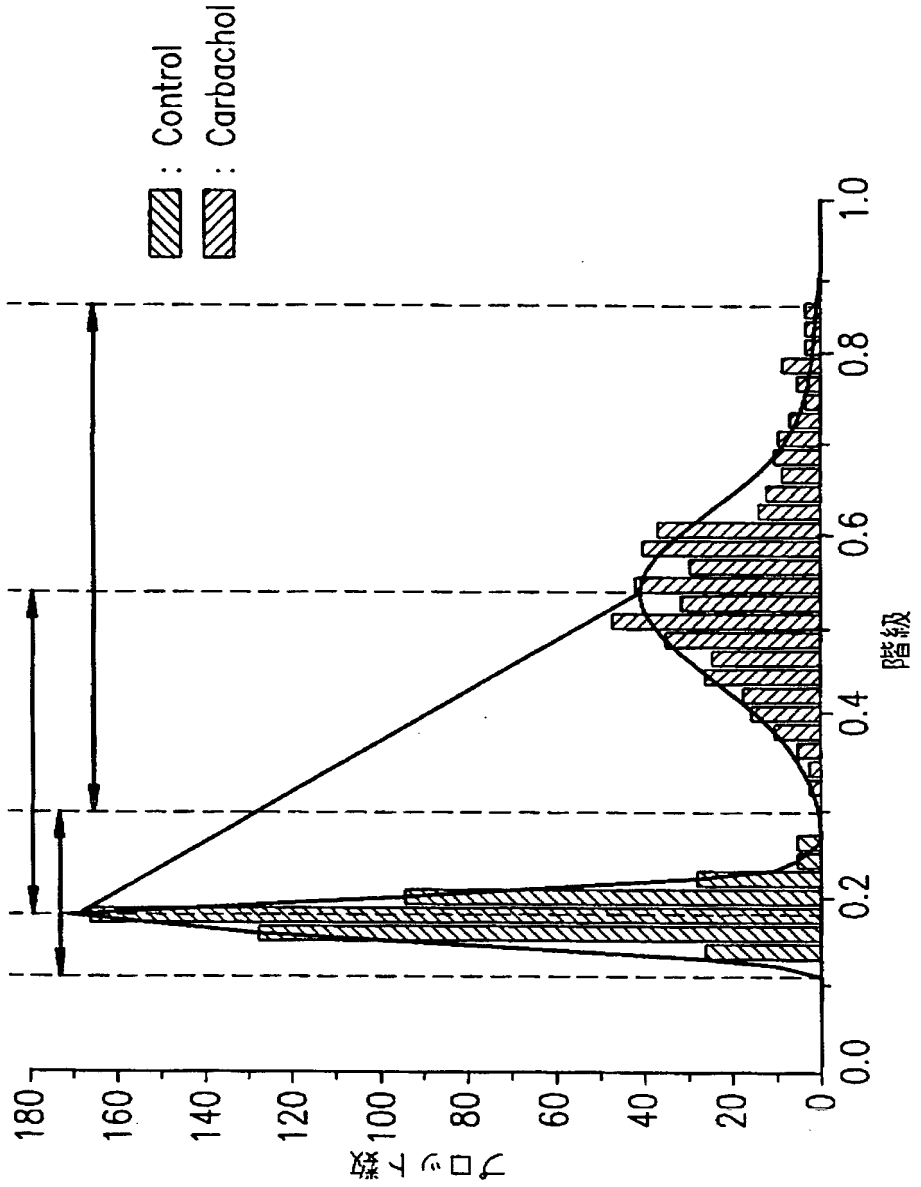
【図１１】



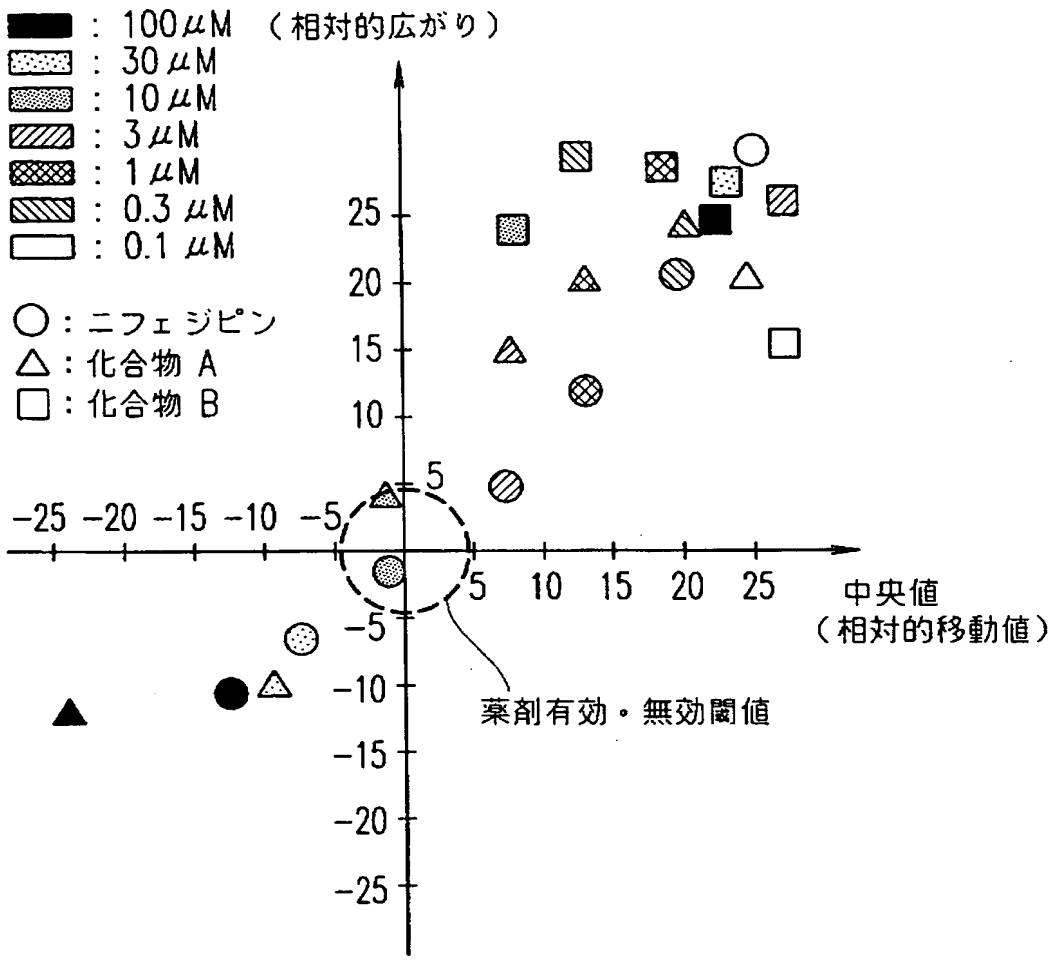
【図１２】



【図１３】


: Control
: Carbachol
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
階級
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
プロット数

【図１４】


：100μM　（相対的広がり）
：30μM
：10μM
：3μM
：1μM
：0.3μM
：0.1μM
○：ニフェジピン
△：化合物 A
□：化合物 B
25
20
15
10
5
−25 −20 −15 −10 −5
5 10 15 20 25
中央値
（相対的移動値）
−5
−10
−15
−20
−25
薬剤有効・無効閾値

【書類名】　要約書

【要約】

【課題】　従来の細胞外記録方法では検出することが不可能であった、生体試料が発する微細な物理化学的信号の変化を容易かつ高い信頼性で検出し得るデバイス、およびそれを用いる生体試料の電気化学的変化を測定する方法および装置を提供する。

【解決手段】　生体試料が発する物理化学的信号を計測するためのデバイスであって、導電性材料を多孔性絶縁基板に含浸させて形成された少なくとも１つの測定電極、および前記測定電極に接続するパターニングされた導電線を備え、生体試料が発する物理化学的信号を導出し得るデバイス。

【選択図】　図１

認定・付加情報

特許出願の番号	特願２００２－１３７８１９
受付番号	５０２００６８４０２６
書類名	特許願
担当官	松田　伊都子　　８９０１
作成日	平成１４年　５月１５日

＜認定情報・付加情報＞

【特許出願人】
- 【識別番号】 000005821
- 【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真１００６番地
- 【氏名又は名称】 松下電器産業株式会社

【代理人】 申請人
- 【識別番号】 100078282
- 【住所又は居所】 大阪市中央区城見１丁目２番２７号　クリスタルタワー１５階
- 【氏名又は名称】 山本　秀策

【選任した代理人】
- 【識別番号】 100062409
- 【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区城見１丁目２番２７号　クリスタルタワー１５階　山本秀策特許事務所
- 【氏名又は名称】 安村　高明

【選任した代理人】
- 【識別番号】 100107489
- 【住所又は居所】 大阪市中央区城見一丁目２番２７号　クリスタルタワー１５階　山本秀策特許事務所
- 【氏名又は名称】 大塩　竹志

次頁無

特願２００２－１３７８１９

出　願　人　履　歴　情　報

識別番号　　［０００００５８２１］

１．変更年月日　　１９９０年　８月２８日
［変更理由］　　新規登録
住　所　　大阪府門真市大字門真１００６番地
氏　名　　松下電器産業株式会社